

С.А.Денисенко
Г.И.Губина-Вакулик
А.В.Андреев

Харьковский национальный
медицинский университет

Ключевые слова: электромагнитное излучение, гипофиз, надпочечники, семенники потомков.

Надійшла: 17.08.2016

Прийнята: 05.09.2016

УДК:[616.432:616.45:616:681]-001.2-091-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМАХ ГИПОФИЗ-НАДПОЧЕЧНИКИ И ГИПОФИЗ-СЕМЕННИКИ У КРЫС, ВНУТРИУТРОБНО ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ СЛАБОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Реферат. В эксперименте на крысах, внутриутробно подвергавшихся воздействию слабого электромагнитного излучения сантиметрового диапазона, изучены морфологические особенности гипофиза (АКТЦ и ГТЦ), надпочечников, семенников. У взрослых молодых крыс потомков, внутриутробно подвергавшихся хроническому воздействию ЭМИ сантиметрового диапазона, наблюдается общая морфофункциональная активация системы АКТЦ-надпочечники, снижение сперматогенеза у самцов на фоне гормональной гиперстимуляции.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 124-128.

© С.А.Денисенко, Г.И.Губина-Вакулик, А.В.Андреев, 2016

✉ sv.a.deni@rambler.ru

Denisenko S.A., Gubina-Vakulik G.I., Andreev A.V. Morphological changes in pituitary-adrenal and pituitary-testes systems in rats which were intrauterine exposed to weak electromagnetic radiation.

ABSTRACT. Background. Electromagnetic radiation (EMR) at the household level is now widespread. Studies of changes in progeny under the action of EMR on the mother during pregnancy are very rare. **Methods.** In the experiment on rats prenatally exposed to weak EMR in the centimeter range, the morphological features of the pituitary gland, adrenals, testes were studied. Adult females-mothers (5 individuals) were exposed to low-intensity EMR centimeter range (1-10 cm); radiation energy was less than 3 mW/cm². Exposure to EMR was performed daily for 4 hours during 1 month before pregnancy and during the entire period of pregnancy. **Results.** In three months old progeny of the main group (15 individuals) comparing with the control group (14 individuals) morphofunctional activation of adrenocorticotrophic cells (ACTC)-adrenal system was identified: ACTC hyperplasia and a significant increase of their nuclei size, hyperplasia of spongiocytes and increase of their nuclei size. The adrenal medulla in the main group showed a decrease in the number of inactive neuroendocrine cells, and significant increase in their nuclear area in males and females. The study of the pituitary-testes system found in the testes of main group males thinning of spermatogenic epithelium (reduction of sperm production). Islets of Leydig cells in the interstitium were hyperplastic, nuclei of Leydig cells were increased. In the pituitary gland of the main group animals gonadotropic cells occur in fewer than in the control group, but they had larger nuclei. **Conclusion.** In adult young rats prenatally exposed to chronic effects of EMR in the centimeter range, there is a general morphofunctional activation of the ACTC-adrenal system and decrease of spermatogenesis in male on the background of their hormonal hyperstimulation.

Key words: electromagnetic radiation, the pituitary gland, adrenal glands, testes, progeny.

Citation:

Denisenko SA, Gubina-Vakulik GI, Andreev AV. [Morphological changes in pituitary-adrenal and pituitary-testes systems in rats which were intrauterine exposed to weak electromagnetic radiation] .Morphologia. 2016;10(3):124-8. Russian.

Введение

В последние десятилетия существенно изменились условия жизни человека. Наблюдается усиление электромагнитного фона во всех сферах жизнедеятельности, что делает фактор электромагнитного излучения (ЭМИ) весьма значимым и требующим изучения его влияния на состояние здоровья населения.

Современные исследования расширили представление о механизмах действия ЭМИ. Основное значение в развитии нетепловых эффек-

тов принадлежит сложным электрохимическим процессам, которые происходят на уровне клеточных и субклеточных структур вследствие резонансного поглощения энергии (квантово-биологический эффект): поляризация мембран, изменение их проницаемости, возникновение химических или структурных изменений в компонентах мембран, структурные изменения в энзимах или любой критической молекуле на любой стадии метаболического цикла, а также взаимодействие собственных зарядов электриче-

ски активных элементов клетки с действующим электромагнитным полем [1,2,3].

Несмотря на то, что указанные явления протекают на клеточном и субклеточном уровнях, эти эффекты на органно-тканевом уровне изучены недостаточно. Тем более, доминирующее количество исследований проводится прямо на организме, непосредственно испытывающем ЭМИ воздействие [4,5]. Нас же заинтересовали потомки после воздействия ЭМИ на беременную особь.

Цель работы: морфологическими методами оценить изменения в системах гипофиз-надпочечники и гипофиз-семенники у животных-потомков при воздействии слабого электромагнитного излучения на животных-матерей во время вынашивания потомства.

Материалы и методы

Исследование проведено на трехмесячных крысах-самках линии Вистар и их потомках трехмесячного возраста. Взрослые самки-матери (5 особей) подвергались воздействию низкоинтенсивного ЭМИ сантиметрового диапазона (1-10см); излучение энергии, выражаемое и плотности потока мощности в зоне, где находились экспериментальные животные, составляло менее 3 мВт/см². Это уровень, не вызывающий теплового эффекта [6]. Воздействие ЭМИ проводилось ежедневно по 4 часа в течение 1 месяца до беременности и в течение всего периода беременности. Для облучения животных использовался излучатель в виде рупора прямоугольной формы с площадью основания 875 см² (излучатель-высокочастотный генератор Г4-190-3/1, излучающая антенна типа П-6-23А). Животные – будущие матери особей контрольной группы (5 особей) ежедневно по 4 часа в сутки выдерживались в камере, соответствующей по размерам камере прибора.

Полученное потомство (основной (15 осо-

бей) и контрольной (14 особей) групп) выводилось из эксперимента в трехмесячном возрасте путем декапитации. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Постановка эксперимента проведена согласно требованиям, предъявляемым к экспериментам на животных (Украина, 2001. Страсбург, 1985).

Морфологическое исследование тканей проведено согласно стандартной методике. Использовалась окраска срезов гематоксилином-эозином, галлоциан-хромовыми квасцами на нуклеиновые кислоты, ставилась ШИК-реакция. Микроскопирование осуществляли на микроскопе «Axiostar-plus» (Zeiss, ФРГ), с последующей морфометрией на компьютерных изображениях микропрепаратов с помощью программы «ВидеоТесТ» (СПб, РФ). Статистический анализ проведен методом вариационной статистики со сравнением средних результатов путем определения критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Рассматривая систему гипофиз-надпочечники, удалось выявить следующие морфологические изменения. При сравнении с морфологической картиной надпочечников у потомков контрольной группы в основной группе и у самцов и у самок пучковая зона коры надпочечников более многоклеточна, о чем свидетельствует достоверное увеличение количества ядер клеток в поле зрения (табл. 1). При окраске гематоксилином-эозином цитоплазма спонгиоцитов более эозинофильная, мало вакуолизирована, с уменьшением запасов исходной субстанции – холестерина, что свидетельствует об активной продукции кортикостероидов. Клетки эндотелия капилляров в интерстиции пучковой зоны выглядят набухшими, ядра – более светлыми, т.е. эндотелиоциты имеют признаки повышенной морфофункциональной активности.

Таблица 1
Морфометрические показатели спонгиоцитов пучковой зоны и эндокриноцитов мозгового вещества надпочечников трехмесячных крыс-потомков

	Контрольная группа		Основная группа	
	самцы	самки	самцы	самки
Количество спонгиоцитов в поле зрения (S =1800 мкм ²)	15,1±0,5	14,5±0,5	22,6±1,2*	24,0±1,1*
Площадь ядер спонгиоцитов, мкм ²	19,7±0,5	20,8±0,3	24,4±0,8*	18,1±0,3*
Площадь ядер нейроэндокриноцитов, мкм ²	17,5±0,9	17,9±0,5	20,9±0,8*	21,7±0,7*

* - p<0,001 относительно контрольной группы

У самцов в пучковой зоне коры надпочечников ядра спонгиоцитов выглядят более крупными, более светлыми, с просматривающимися ядрышком, цитоплазма с мелкими прозрачными

вакуолями. Кариометрически выявлено достоверное увеличение площади ядер спонгиоцитов у самцов-потомков основной группы по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

У самок ядра спонгиоцитов имеют овальную достоверно меньшую площадь по сравнению с контрольной группой (табл. 1), что можно трактовать как повышение морфофункциональной активности отдельных спонгиоцитов на фоне их гиперплазии у самцов и понижение морфофункциональной активности отдельных спонгиоцитов на фоне их гиперплазии у самок. Это различие может быть свидетельством более сильной реакции пучковой зоны коры надпочечников у самцов по сравнению с самками, в ответ на внутриутробное воздействие ЭМИ.

Морфологическая картина подтверждается данными биохимических исследований, в этом же эксперименте (опубликовано ранее): у животных этой группы выявлен достоверно более высокий уровень кортикостерона в сыворотке крови, у самцов в большей степени, чем у самок [7].

При микрофотографировании мозгового вещества надпочечников отмечается что, у животных основной группы по сравнению с контрольной группой наблюдается уменьшение количества запасных неактивных нейроэндокриноцитов. Активно работающие НЭЦ имеют крупное эухромное ядро, цитоплазма менее вакуолизована, чем в контрольной группе, что свидетельствует об активном синтезе и выведении катехоламинов. Кариометрически выявлено достоверное увеличение площади ядер нейроэндокриноцитов у самцов и самок основной группы по сравнению с контролем (табл. 1), что совместно с результатами гистологических наблюдений трактуется как повышенная морфофункциональная активность мозгового вещества надпочечников у взрослых потомков, внутриутробно испытывавших воздействие низкоинтенсивного ЭМИ.

Удалось также показать, что у взрослых потомков О группы наблюдается адаптационная активация и АКТЦ гипофиза, регулирующая функцию надпочечников.

Адренкортикотропоциты концентрируются в задней зоне аденогипофиза, где у животных основной группы наблюдается абсолютное доминирование АКТЦ, тогда как в контрольной группе АКТЦ присутствуют в заметно меньшем количестве (рис. 1,2).

Кариометрия позволила выявить достоверное увеличение площади ядер АКТЦ в гипофизе животных основной группы по сравнению с контрольной группой: соответственно Огр. $21,5 \pm 0,3 \text{ мкм}^2$, Кгр. $19,4 \pm 0,3 \text{ мкм}^2$; $p < 0,001$), на основании выявленной гиперплазии АКТЦ и увеличением размера ядер АКТЦ можно сделать предположение о более интенсивном синтезе АКТГ в гипофизе этих животных. Т.е. внутриутробное воздействие низкоинтенсивного ЭМИ обуславливает формирование у взрослых потомков более активного состояния адаптационной системы гипофиз-надпочечники.

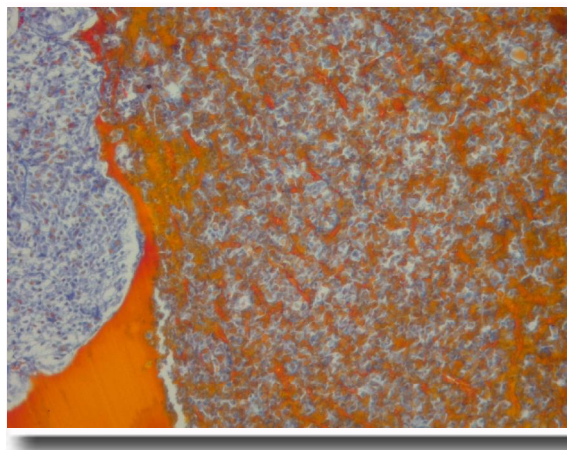


Рис. 1. Задне-центральная зона аденогипофиза трехмесячной крысы-потомка. Контрольная группа. Окраска по Маллори. $\times 100$.

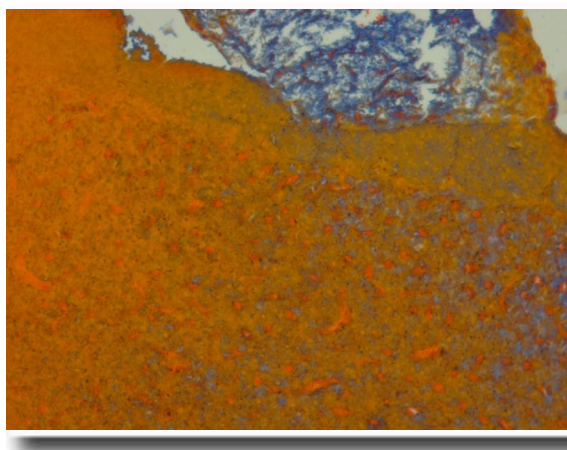


Рис. 2. Задне-центральная зона аденогипофиза трехмесячной крысы-потомка. Основная группа. Увеличенное количество АКТЦ и увеличенные запасы АКТГ. Окраска по Маллори. $\times 100$.

При изучении системы гипофиз-семенники гистологически также были выявлены некоторые изменения.

В семенниках основной группы в сравнении с контрольной семенные канальцы размещены более рыхло, т.е. их меньше, а строма более объемна, компактна, с большим содержанием коллагена и гликозаминогликанов. Эпителиосперматогенный слой, выстилающий базальную мембрану, местами истончается, наблюдаются места «опустошения», чего нет в контрольной группе. Клеточный состав эпителиосперматогенного слоя представлен сперматогониями в разной степени дифференцировки и клетками Сертоли. Островки клеток Лейдига в интерстиции содержат увеличенное количество гормонпродуцирующих клеток (рис.3), они представлены, в основном, клетками 2-го типа, имеют более крупное эухромное ядро по сравнению с клетками Лейдига у животных контрольной группы, иногда встречаются клетки 3-го типа (имеют менее

эозинофильную цитоплазму и темное пикнотичное ядро, т. е. являются гибнущими путем апоптоза), тогда как в группе К они отсутствуют. Измерение площади ядер активно функционирующих клеток Лейдига выявило, что в группе О наблюдается достоверное ее увеличение: О.гр. - $15,0 \pm 0,4$ мкм², Кгр. - $11,0 \pm 0,4$ мкм², $p < 0,05$). Ранее у этих же животных был определен уровень тестостерона в крови: выявлено достоверное, хотя и небольшое повышение этого показателя [7].

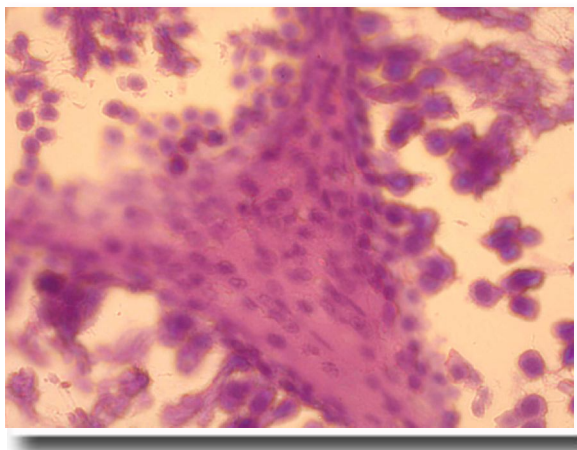


Рис. 3. Семенник трехмесячной крысы основной группы. Гиперплазированный островок из клеток Лейдига. Окраска гематоксилином-эозином. $\times 400$.

Таким образом, в семенной железе внутриутробно получавших воздействие ЭМИ самцов имеются морфологические признаки снижения продукции сперматозоидов, гиперандрогенопродукция играет, видимо, компенсаторную роль.

При исследовании гипофиза оказалось, что морфофункциональное состояние гонадотропоцитов аденогипофиза, регулирующих половые железы соответствует выявленным морфофункциональным особенностям семенных желез.

В основной группе гонадотропоциты наблюдаются в меньшем количестве, чем в контрольной группе, но имеют больший размер ядер: Огр. $22,2 \pm 0,6$ мкм²; Кгр. $17,8 \pm 0,5$ мкм², ($p < 0,001$), что, очевидно, компенсирует уменьшенное количество ГТЦ. Т.е. вероятно, повышение гормональной активности семенников при внутриутробном воздействии ЭМИ имеет компенсаторный характер относительно снижения количества сперматогенного эпителия, а гонадотропин стимулирует семенник. Снижение количества ГТЦ в аденогипофизе взрослых потомков может быть обусловлено как внутриутробно заложенной гипоплазией, так и форсированным их

апоптозом при высокоактивном функционировании.

При обзоре научной литературы по изучаемым вопросам действительно оказалось, что в многочисленных экспериментальных исследованиях изучается непосредственное влияние ЭМИ на организм, а исследований, посвященных перинатальным эффектам, практически нет или они проводятся очень общо, не выявляя никаких патологических изменений у потомков [8].

Проведенное нами исследование с изучением последствий для потомков влияния ЭМИ на материнский организм выявило у потомков смещение морфофункциональной активности в системе АКТЦ-надпочечники (активацию), что свидетельствует о внутриутробно произошедшей адаптации, сохраняющейся в течение постнатального онтогенеза.

Наиболее часто исследователи изучают влияние ЭМИ на мужскую половую железу, в частности, выявлено опустошение сперматогенного эпителия канальцев семенников [5]. Другие авторы [9] обнаружили уменьшение количества клеток Лейдига в ткани семенников крыс под действием ЭМИ. Наши результаты свидетельствуют об уменьшении продукции сперматозоидов у молодых взрослых потомков, несмотря на компенсаторно развивающуюся гормональную гиперстимуляцию.

Можно предположить, что в недалеком будущем у таких особей может развиваться относительная гормональная недостаточность в системе ГТЦ-семенники, также как в системе АКТЦ-надпочечники. Эти факты могут свидетельствовать о прогнозе ускоренного старения потомков матерей, перенесших хроническое воздействие слабым ЭМИ сантиметрового диапазона.

Заключение

Морфологическими методами установлено, что у взрослых молодых потомков самок крыс Вистар, в течение беременности подвергавшихся хроническому воздействию ЭМИ сантиметрового диапазона, наблюдается общая морфофункциональная активация системы АКТЦ-надпочечники, снижение сперматогенеза у самцов на фоне гормональной гиперстимуляции.

Перспективы дальнейших исследований

Результаты данного экспериментального исследования обосновывают необходимость проведения широкого клинического исследования с изучением отдаленных последствий у потомков, внутриутробно (через материнский организм) перенесших хроническое воздействие ЭМИ сантиметрового диапазона.

Литературные источники References

1. Grigor'ev IuG, Shafirkin AV, Vasin AL. [Bioeffects of chronic exposure to radiofrequency electromagnetic fields of low intensity (standardization strategy)]. *Radiats Biol Radioecol.* 2003 Sep-Oct;43(5):501-11. Russian.
2. Saxena A, Jacobson J, Yamanashi W, Scherlag B, Lamberth J, Saxena B. A hypothetical mathematical construct explaining the mechanism of biological amplification in an experimental model utilizing picoTesla (PT) electromagnetic fields. *Med Hypotheses.* 2003 Jun;60(6):821-39.
3. Bauréus Koch CL, Sommarin M, Persson BR, Salford LG, Eberhardt JL. Interaction between weak low frequency magnetic fields and cell membranes. *Bioelectromagnetics.* 2003 Sep;24(6):395-402.
4. Tas M, Dasdag S, Akdag MZ, Cirit U, Yegin K, Seker U, Ozmen MF, Eren LB. Long-term effects of 900 MHz radiofrequency radiation emitted from mobile phone on testicular tissue and epididymal semen quality. *Electromagn Biol Med.* 2014 Sep;33(3):216-22. doi: 10.3109/15368378.2013.801850.
5. Almášiová V, Holovská K, Cigánková V, Račeková E, Fabianová K, Martončíková M. Structural and ultrastructural study of rat testes influenced by electromagnetic radiation. *J Toxicol Environ Health A.* 2014;77(13):747-50. doi: 10.1080/15287394.2014.890988.
6. Presman A. [Electromagnetic fields and wildlife]. Moscow: Nauka; 1968. 287 p. Russian.
7. Denisenko SA, Gubina-Vakulik GI. [Morphofunctional state of pituitary-adrenal and pituitary-gonadal systems in rats undergoing prenatal exposure by electromagnetic radiation in the centimeter range] *J Problems Endocrine Pathology.* 2007;4: 84-9. Russian.
8. Lee HJ, Lee JS, Pack JK, Choi HD, Kim N, Kim SH, Lee YS. Lack of teratogenicity after combined exposure of pregnant mice to CDMA and WCDMA radiofrequencyelectromagnetic fields. *Radiat Res.* 2009 Nov;172(5):648-52. doi: 10.1667/RR1771.1.
9. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz A. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health.* 2011 Jun;27(5):455-63. doi: 10.1177/0748233710389851.

Денисенко С.А., Губина-Вакулик Г.І., Андреев А.В. Морфологічні зміни в системі гіпофіз – наднирники і гіпофіз – сім'яники у щурів, що внутрішньоутробно зазнавали впливу слабого електромагнітного випромінювання.

Реферат. В експерименті на щурах, що внутрішньоутробно піддавалися дії слабого електромагнітного випромінювання сантиметрового діапазону, вивчені морфологічні особливості гіпофіза, наднирників, сім'яників. У дорослих молодих щурів-нащадків, що внутрішньоутробно піддавалися хронічному впливу ЕМІ сантиметрового діапазону, спостерігається загальна морфофункціональна активація системи адренкортикотропозити-наднирники, зниження сперматогенезу у самців на тлі гормональної гіперстимуляції.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання, гіпофіз, наднирники, насінники нащадків.